Biopsias

¿Nunca te has preguntado, que hacen cuando te quitan algún tejido para analizar?

Cuando te extraen algo como un pólipo, un tumor o cualquier otro tejido, lo envían al departamento de anatomía patológica para hacer una biopsia. Una biopsia es como tomar una pequeña parte de un libro y leerla con lupa para encontrar posibles errores o detalles ocultos que no se ven a simple vista. Así, los médicos pueden detectar enfermedades o anormalidades en tu cuerpo.
Utilizan herramientas como agujas o bisturíes para obtener la muestra. Aunque puede sonar complicado, el procedimiento suele ser rápido, y la mayoría de las veces se usa anestesia local para que no sientas dolor. Con los resultados de la biopsia, los médicos pueden saber con precisión qué ocurre y decidir cuál es el tratamiento adecuado.

Ahora vamos a seguir el recorrido de esa muestra, desde que se extrae hasta que el médico patólogo, especialista en este campo, firma el informe final.
A Juan, (paciente Imaginario), en el transcurso de una endoscopia le han detectado una serie de pólipos de diferentes tamaños, el endoscopista utiliza un Asa de polipectomía que es un pequeño lazo de alambre que se pasa a través del endoscopio. Se coloca alrededor del pólipo y se aplica una corriente eléctrica para cortarlo y extraerlo.

Una vez extraído, el pólipo se coloca en un recipiente hermético y estéril para evitar que se contamine. Este recipiente se etiqueta con los datos del paciente, la fecha de extracción y el tipo de tejido. Además, contiene una solución fijadora, comúnmente formalina al 10%, que mantiene el tejido en buen estado para evitar su deterioro.
Un celador transporta el recipiente a la unidad de anatomía patológica del centro sanitario. Una vez que se verifica la procedencia del material, comienza la preparación del tejido.

Un técnico en anatomía patológica realiza una descripción macroscópica, observando a simple vista el tejido y anotando detalles como el tamaño, la forma y el color. A continuación, el tejido se somete a una serie de baños en alcohol con concentraciones crecientes para deshidratarlo. Luego se infiltra en parafina, lo que le da firmeza y permite cortarlo en finas láminas.
Utilizan un micrótomo para realizar cortes extremadamente delgados, del grosor de micrómetros. Estas secciones se tiñen con colorantes como la hematoxilina y la eosina, que permiten resaltar las estructuras celulares. Finalmente, las láminas teñidas se montan en portaobjetos de vidrio para su análisis microscópico.
En algunos casos, pueden ser necesarias técnicas adicionales, como inmunohistoquímica o estudios moleculares, para llegar a un diagnóstico más preciso.

Pero vayamos por partes. Para preparar el tejido:

PROCESAMIENTO DE TEJIDOS.

Los tres pasos del procesamiento de tejidos (deshidratación, aclaramiento e infiltración) son pasos secuenciales designados para remover toda el agua que se puede extraer de los mismos y reemplazarla con un medio que se solidifique.

DESHIDRATACIÓN

Es necesario que se quite el agua de las muestras para que luego se puedan cortar con el micrótomo. La deshidratación se obtiene con alcohol etílico de graduación creciente, comenzando por el alcohol 70º, luego tres alcoholes 96º (para completar las 24hs.). Luego tres alcoholes de 100º (durante 24hs aproximadamente). Recordando que la deshidratación incompleta perjudica la inclusión y, en cambio, la permanencia prolongada en alcohol absoluto no altera las piezas, es preferible emplear el tiempo de permanencia en el baño de deshidratación.



Los procesadores automáticos de tejidos perfeccionan el procesamiento mediante el uso de calor, vacío, presión, y agitación, también logran que tengan lugar durante la noche sin la presencia del personal, este método es el utilizado en el laboratorio.

ACLARACIÓN.

Terminada la deshidratación las muestras se hallan embebidas en alcohol absoluto. La parafina, que debe penetrarlos, es insoluble en el alcohol, de ahí la necesidad de un líquido intermediario que sea miscible al mismo tiempo en el alcohol 100º y la parafina.

Se utiliza para este fin el xilol. Cuando las muestras se hallan impregnadas en solvente, adquieren una acentuada transparencia, considerándose a esta como índice de penetración.

IMPREGNACIÓN EN PARAFINA (IMBIBICION)

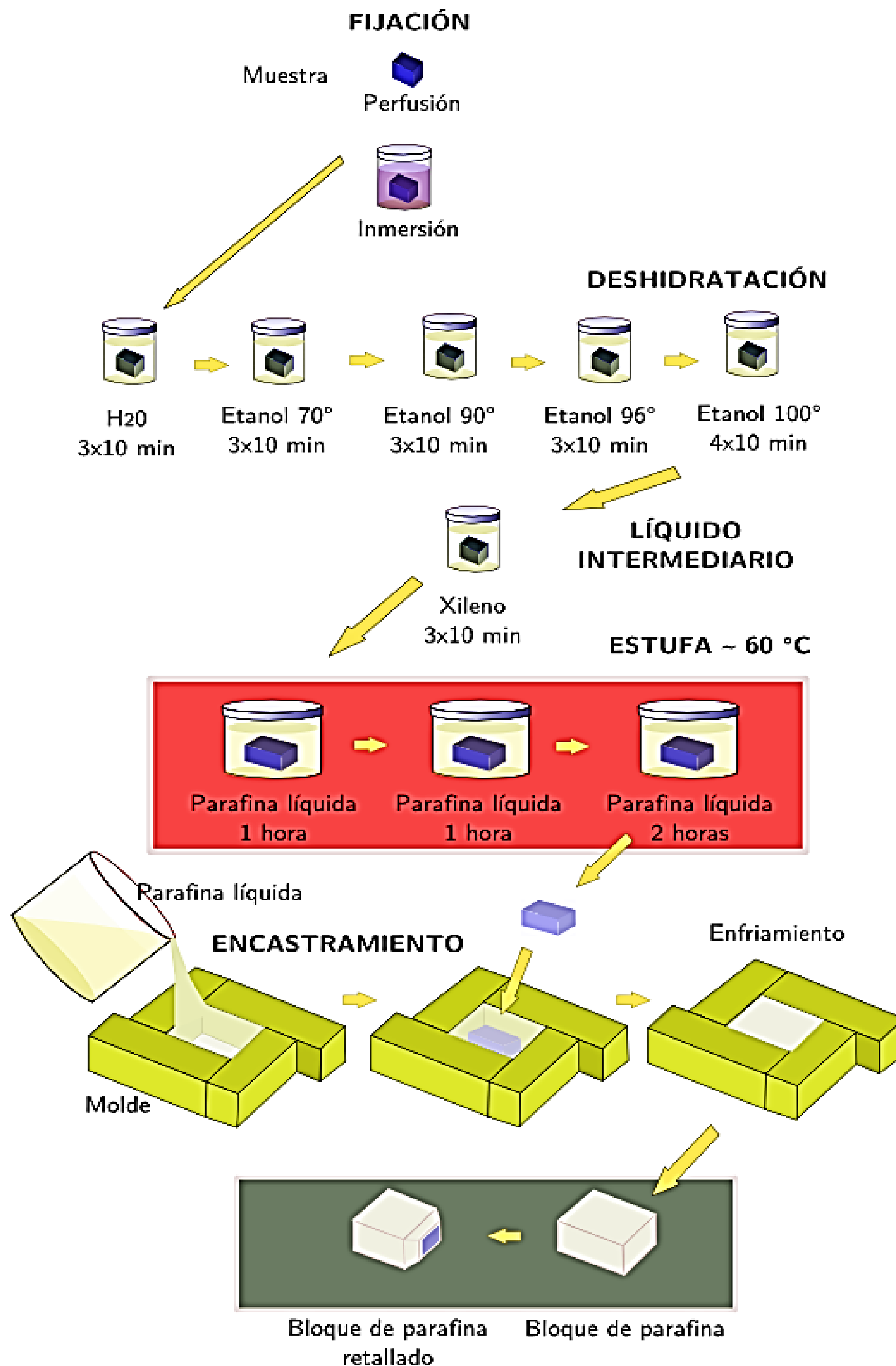
Es necesario mantener tres recipientes con parafina de 58ºC-60ºC de punto fusión, en forma líquida. El tiempo total de procesamiento está estimado en un mínimo de 3-4hs a 24hs, según el tamaño de la muestra.

INCLUSIÓN DE TEJIDOS.

Es el proceso de rodear un tejido con una sustancia firme, tal como la cera, para poder obtener secciones bien delgadas. La parafina es el medio de inclusión más común.



Los centros de inclusión son sistemas multifuncionales que usualmente incluyen un proveedor de parafina, un tanque para mantener las muestras, una placa de temperatura tibia para orientar la muestra en parafina derretida y una placa fría para transformar la parafina derretida en un bloque sólido, luego que la muestra haya sido orientada, siendo este método el utilizado en el Laboratorio.

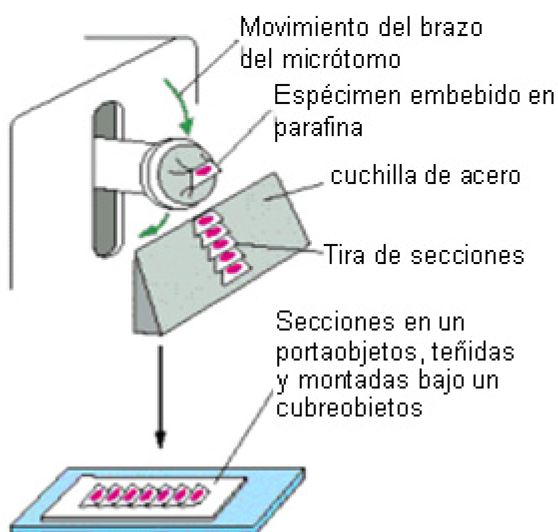


El Microtomo



Los micrótomos son instrumentos de corte utilizados en la elaboración de muestras para microscopía. Para satisfacer las altas exigencias de estas preparaciones, los micrótomos permiten realizar cortes extremadamente finos, con espesores que varían desde 0,1 hasta 100 µm. A modo de comparación, el grosor de un cabello humano oscila entre 50 y 70 µm. La historia de los micrótomos se remonta al desarrollo de los microscopios de luz. Para analizar objetos con estos microscopios, era necesario que las muestras fueran lo suficientemente delgadas para permitir el paso de la luz.

Inicialmente, los micrótomos eran simples cuchillas, comúnmente cuchillas de afeitar, que se utilizaban para cortar manualmente. A medida que aumentaban las exigencias, fue necesario desarrollar micrótomos más sofisticados. Los primeros micrótomos, tal como los conocemos hoy en día, se desarrollaron en 1866 por Wilhelm His. Estos permitían fijar la muestra y ajustar el grosor del corte mediante tornillos.



Actualmente, los micrótomos mecánicos consisten en un bloque, un sujeta muestras y un equipo técnico para controlar el avance. La calidad de las preparaciones depende del tipo de avance, la geometría de la cuchilla y la declinación (ángulo entre la cuchilla y la dirección de corte). Además, la preparación de la muestra, como la congelación, puede influir en el resultado. Hoy en día, se utilizan cada vez más los micrótomos láser, que permiten preparar muestras sin contacto.



Existen varios tipos básicos de micrótomos, pero todos funcionan con el mismo principio: tienen un porta bloques donde se coloca el material a cortar, que avanza sobre una cuchilla gracias a un sistema de cremallera. Este sistema permite obtener secciones delgadas de un espesor seleccionado por un tornillo que controla el mecanismo de avance, que puede ser manual o digitalizado.

El bloque, generalmente hecho de parafina, solía fijarse mediante parafina fundida. Hoy en día, se fija con una pinza, y él porta bloques, se orienta con tornillos para que quede paralelo a la cuchilla. El portacuchillas tiene dos palancas para fijar la cuchilla y otra para controlar su inclinación, asegurando cortes homogéneos. El sistema de avance del porta bloques sobre la cuchilla proporciona cortes sucesivos de tejido.

En los laboratorios, los micrótomos se clasifican en diferentes categorías según la necesidad específica:

Micrótomos de deslizamiento

Estos micrótomos tienen un sujeta muestras fijo y una cuchilla sobre una corredera. Las correderas suelen ser pesadas para garantizar un corte estable. La cuchilla se presiona a través de la muestra, permitiendo cortes de 1 a 60 µm. Durante el corte, la cuchilla se desliza a través de la muestra, permitiendo cortes precisos y uniformes. Este tipo de micrótomo es ideal para materiales con variaciones significativas en dureza.

Micrótomos de rotación

Los micrótomos de rotación, también conocidos como Minot, están diseñados para cortes repetidos y precisos. Su sujeta muestras móvil se acciona mediante un volante, que convierte el movimiento rotatorio en uno lineal. La alta masa del volante ayuda a igualar las diferencias de dureza en la muestra, facilitando cortes uniformes. Este tipo de micrótomo es ampliamente utilizado en histología para preparar muestras de tejidos blandos y medianamente duros. La alta masa del volante ayuda a cortar uniformemente diferentes durezas en la muestra, permitiendo cortes entre 1 y 60 µm.

Micrótomos de congelación "Criostato"

Estos micrótomos, una subcategoría de los de rotación, utilizan un recipiente congelador enfriado con nitrógeno para aumentar la dureza de la muestra. El micrótomo, similar al de parafina convencional, se incluye en una cámara de congelación, permitiendo cortes sin fijar a -20 °C o incluso a -60 °C. Un sistema anti-enrollamiento facilita cortes seriados. Estos micrótomos son esenciales para preparar muestras sin fijar, permitiendo cortes rápidos y precisos para estudios inmediatos, como en patología y biopsias.

Ultramicrótomos
Los ultramicrótomos son cruciales para la preparación de muestras para microscopía electrónica de transmisión (TEM). Estos dispositivos permiten obtener secciones ultrafinas, con grosores que oscilan entre 10 y 500 nm. Utilizan cuchillas de vidrio o diamante y un avance extremadamente fino, a menudo controlado por dilatación térmica, para garantizar la máxima precisión y calidad en los cortes. Son utilizados en investigación avanzada de materiales y biología molecular.

Micrótomos láser
Utilizan un láser especial para cortar muestras de 10 a 100 µm sin causar daño térmico, gracias a su fuerte enfoque y corta duración de impulso.

Tipos de cuchillas para micrótomos

Las cuchillas de micrótomos pueden ser de acero, vidrio o diamante, dependiendo de la necesidad del laboratorio y la finura del corte requerido:

- **Cuchillas de acero**: Para tejidos blandos de animales y vegetales, histología, corcho, madera y poliestireno expandido.
- **Cuchillas de vidrio**: Ideales para secciones muy delgadas para microscopía de luz y electrónica.
- **Cuchillas de diamante**: Utilizadas en industrias para cortar materiales duros como huesos, dientes y maderas duras, siendo adecuadas tanto para microscopia de luz como electrónica.

Las cuchillas de los micrótomos, independientemente del material, son esenciales para obtener secciones precisas y de alta calidad, necesarias para diversos tipos de análisis microscópicos. Los cortes óptimos son de 4 a 6 micrones; se depositan los cortes con su cara brillante hacia abajo sobre un portaobjeto con albúmina y agua, se extiende el corte con un pincel seco y se ayuda con una aguja histológica. Los cortes son llevados a una estufa de 37º- 47ºC durante 20 minutos.



La evolución de los micrótomos ha sido fundamental para el avance de la microscopía y la investigación científica. Desde sus inicios con simples cuchillas hasta los sofisticados micrótomos láser actuales, estos instrumentos han permitido a los científicos explorar estructuras microscópicas con una precisión y detalle sin precedentes. La elección del micrótomo adecuado y el tipo de cuchilla correcta es crucial para obtener resultados óptimos en cualquier análisis microscópico.

Preparación de la muestra para su observación

DESPARAFINIZACIÓN.

Como la parafina impide la coloración, corresponde eliminarla, utilizando, para tal fin, solventes como el xilol. Los cortes están completamente deshidratados y, como se emplea un colorante en solución acuosa, resulta necesaria su hidratación previamente con alcoholes de graduación decreciente hasta llegar al agua (xilol, alcohol 100º, 96º, 70º y agua destilada).

HEMATOXILINA-EOSINA.

Hay dos métodos de hematoxolina, de Mayer y de Harris.

La cromatina nuclear se tiñe con la solución de hematoxilina, se deja el portaobjeto en la solución, durante 5 minutos, el corte toma color pardo que luego se vira con agua corriente y cambia al azul.

Existen varios tipos de tinción del citoplasma con eosina, unas solubles en agua y otras en alcohol, entre las primeras (más aconsejables) denominadas amarillentas.

Secuencia de tinción:

- Xileno.
- Xileno.
- Alcohol 100º.
- Alcohol 100º.
- Alcohol 96º.
- Alcohol 96º.
- Alcohol 80º.
- Agua destilada.
- Hematoxilina Mayer.
- Agua corriente.
- Agua destilada.
- Alcohol 80º.
- Eosina.
- Alcohol 96º.
- Alcohol 96º.
- Alcohol 100º.
- Alcohol 100º.
- Xileno.
- Xileno.



Sistema de preparación de muestras automático

Montaje en portaobjetos

El proceso de preparación de una lámina portaobjetos culmina con la colocación de un cubreobjetos sobre la sección de tejido. Este paso no solo garantiza la preservación de la muestra, sino que también permite su análisis microscópico sin alteraciones a lo largo del tiempo. Para fijar el cubreobjetos, se emplean distintos medios de montaje, dependiendo de las características del tejido y las necesidades de la observación. Los más utilizados son:

1. **Resinas naturales:** como el bálsamo de Canadá, tradicionalmente preferido por su claridad óptica y durabilidad.
2. **Resinas sintéticas:** ampliamente usadas en la actualidad por su resistencia y facilidad de manejo.
3. **Medios acuosos:** ideales para tejidos que podrían alterarse durante los procesos de deshidratación, o para técnicas específicas como tinciones para lípidos que emplean solventes basados en xileno.

Cada medio tiene aplicaciones específicas que deben evaluarse antes de proceder con el montaje.

Técnicas especiales

La preparación de portaobjetos incluye procedimientos específicos para destacar ciertas estructuras o identificar componentes particulares en los tejidos. Algunas técnicas habituales son:

Tejido conectivo:

- Coloración tricrómica de Gomori: útil para diferenciar fibras colágenas de fibras musculares.
- Coloración tricrómica de Masson: frecuentemente empleada para estudiar la arquitectura de tejidos conectivos.

Hidratos de carbono:

- Método del ácido peryódico-Schiff (PAS): diseñado para resaltar mucopolisacáridos y glucógeno en tejidos.

Microorganismos:

- Método de Ziehl-Neelsen: empleado en la identificación de bacterias ácido-alcohol resistentes, como el *Mycobacterium tuberculosis*.

Estas técnicas no solo diversifican las aplicaciones diagnósticas, sino que también ofrecen una visión detallada de estructuras específicas que a menudo no se identifican con métodos más generales.

Remisión y consulta de preparados

El material diagnóstico, como los cortes microscópicos, es considerado permanente y debe estar disponible para análisis repetidos. Este principio garantiza que las evaluaciones puedan ser revisadas por diferentes especialistas o por el mismo observador en diferentes momentos, facilitando una segunda opinión o un seguimiento del caso.

Todo el material debe ser archivado de manera indefinida. Los cortes y los bloques de parafina deben organizarse con un sistema de identificación preciso. En el caso de recibir una nueva muestra en el laboratorio, es esencial verificar en los archivos si existe material relacionado previamente procesado. Si se encuentra, tanto los cortes como los informes deben revisarse minuciosamente para asegurar consistencia en el diagnóstico.

Esto constituye una medida esencial para el control de calidad y la mejora continua del proceso diagnóstico. Adicionalmente, el patólogo tiene la responsabilidad de solicitar preparados de casos diagnosticados en otras instituciones. Estos deben ser revisados personalmente para emitir un informe formal que respalde los hallazgos y asegure su validez.

Control de calidad

La confiabilidad de los resultados depende en gran medida de un sistema sólido de control de calidad. Este proceso incluye:

- Aplicación rigurosa de procedimientos estándar para el manejo de muestras.
- Mantenimiento de una cadena de custodia ininterrumpida que garantice la trazabilidad de cada caso.
- Conservación organizada de los cortes histológicos y bloques de parafina con identificaciones correlativas.
- Almacenamiento adecuado de las muestras biológicas ya estudiadas en depósitos con condiciones ambientales controladas.

Estos controles no solo preservan la integridad del material, sino que también refuerzan la capacidad del laboratorio para responder a revisiones, auditorías o consultas futuras. Implementar y supervisar estas prácticas es indispensable para asegurar la precisión y reproducibilidad en los diagnósticos histopatológicos.



Evaluación microscópica e Informe del diagnóstico

Una vez que el portaobjetos está listo, el patólogo lo analiza bajo el microscopio. Este paso es el corazón del proceso, ya que el especialista examina la muestra en busca de alteraciones celulares que puedan indicar enfermedades como inflamación, infecciones, tumores benignos o cáncer. Finalmente, el patólogo redacta un informe detallado basado en sus hallazgos. Este informe incluye una descripción de las características del tejido, un diagnóstico claro y, en muchos casos, recomendaciones para tratamientos adicionales o pruebas complementarias.

Todo este recorrido, que puede parecer largo y complejo, se realiza en un plazo ajustado para garantizar que el médico tratante y el paciente obtengan los resultados lo antes posible. Este viaje desde el cuerpo hasta el diagnóstico final es un ejemplo de la precisión y la dedicación que caracteriza a la medicina moderna.

Bibliografía:

1. *Gómez A, Ruiz C. Procesamiento y técnicas en anatomía patológica. Editorial Médica; 2022. p. 98-112.*
2. *Martínez J, Pérez M. Técnicas histológicas y su aplicación en el diagnóstico clínico. Madrid: Editorial Sanitaria; 2021. p. 45.*
3. *Rodríguez F, Díaz L. Microscopía y preparación de muestras biológicas. Barcelona: Editorial Científica; 2020. p. 215.*
4. *Kok LP, Boom ME. Microwave Cookbook for Microscopists: A Comprehensive Guide for Microscopists Who Use Microwaves for Routine and Research Applications. Coulomb Press Leyden; 1992.*
5. *Sánchez E. Fundamentos de la biopsia y su análisis. Rev Med Clin. 2019;58(3):233-239.*
6. *Pardell X. Apuntes de electromedicina, el microtomo. www.pardell.es.*
7. *Hernández R, López A. Introducción a la histología clínica. Editorial Universitaria; 2018. p. 210.*
8. *Griffiths G, Hoppeler H. Ultrastructure Atlas of Human Tissues. Springer; 2020.*
9. *Gómez C, Ruiz B. Prácticas en laboratorio: Técnicas de tinción y preparación de muestras. Rev Patol Exp. 2017;34(1):75-80.*
10. *Martínez P, Sánchez J. Tecnologías avanzadas en microscopía: Micrótomos y su evolución. J Med Technol. 2020;23(4):195-202.*



Xavier Pardell

